



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Etiologier till mastocytom hos hund

Elin Falk

*Uppsala
2015*

Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet

Kandidatarbete 2015:17

Etiologier till mastocytom hos hund

Aetiologies of canine mastocytomas

Elin Falk

Handledare: Eva Hellmén, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Kandidatarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurskod: EX0700

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Delnummer i serie: Kandidatarbete 2015:17

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: hund, mastcell, mastcellstumör, mastocytom, uppkomst, mekanism, etiologi, kit

Key words: canine, dog, mast cell, mast cell tumour, mastocytoma, mechanism, aetiology, kit

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	4
Litteraturöversikt	4
Kit	4
Autokrin/parakrin produktion av SCF	6
IL-2R och IL-2.....	6
Genetisk predisponering	7
Kön	8
Ålder	8
Diskussion	8
Referenslista	12

SAMMANFATTNING

Mastocytom är den vanligaste typen av kutana tumörer som ses hos hundar, och utgör 7-21 % av hundens alla hudtumörer. Majoriteten av alla mastocytom hos hundar uppstår i dermis eller i subkutan vävnad. Etiologin bakom uppkomsten av kutana mastocytom hos hundar är fortfarande inte helt klarlagd, och den är förmodligen multifaktoriell. Syftet med den här litteraturstudien är att diskutera olika mekanismer som kan ligga bakom utvecklingen av kutana mastocytom hos hund. Studien tar även upp frågan om det finns en genetisk predisponering hos vissa hundraser.

Mastceller härstammar från hematopoetiska stamceller. De lämnar benmärgen i ett omoget stadium och migrerar till olika vävnader, såsom hud, respirationsorgan och gastrointestinaltrakten, där de mognar till vävnadsmastceller. Mastceller är viktiga i utvecklingen av många olika tumörtyper. De rekryteras tidigt i tumörutvecklingen och har en nyckelroll vid både angiogenes och remodellering av vävnaden, vilket främjar initiering och tillväxt av tumören. Mastcellerna kan även tumöromvandlas och bilda kutana eller visceral mastocytom, eller orsaka en systemisk mastocytos. Mastocytomen har en stor variation gällande malignitetsgrad, lokalisation och spridning.

Mutationer i protoonkogenen c-kit ses i 9-33 % av alla kutana mastocytom hos hundar. C-kit är en gen som kodar för tyrosinkinasreceptorn kit, som har stamcells faktorn (SCF) som ligand. Interaktioner mellan SCF och kit krävs för överlevnad, differentiering, proliferation och en normal funktion hos mastceller. Mutationer i c-kit orsakar en autoaktivering av tyrosinkinasreceptorn och inducerar på så sätt en mastcellsproliferation som är oberoende av tillväxtfaktorer, vilket kan leda till utveckling av mastocytom. De mastocytom som saknar mutationer i c-kit har dock ingen klarlagd uppkomstmekanism. En del forskare har visat att det finns en autokrin/parakrin mekanism där cellerna själva producerar SCF som kan binda till kit och därmed orsaka proliferation och ge upphov till kutana mastocytom. Andra forskare har visat att mastcellerna uttrycker IL-2-receptorn (IL-2R) och liganden IL-2. När IL-2 binder till IL-2R aktiveras signalvägar som leder till celltillväxt och cellöverlevnad. Denna autokrina mekanism påstås också kunna ge upphov till mastocytom.

Sammanfattningsvis är det konstaterat att mutationer i protoonkogenen c-kit orsakar uppkomsten av mastocytom hos vissa hundar. I mastocytom som saknar c-kitmutationer kan en autokrin/parakrin signalering med SCF och/eller IL-2 vara avgörande i tumörutvecklingen. Forskare har kommit fram till att det finns en genetisk predisponering, då vissa hundraser drabbas av mastocytom mer frekvent än andra raser. Det är däremot oklart huruvida kön och könshormoner påverkar tumörutvecklingen. Enligt forskarna tenderar äldre hundar att drabbas av mastocytom oftare än yngre hundar. Mer forskning om mastocytom krävs för att säkerställa uppkomstmekanismerna för de tumörer som inte orsakas av c-kit-mutationer, och för att ta reda på varför vissa hundraser drabbas av mastocytom oftare än andra raser.

SUMMARY

Mastocytomas are the most common skin tumours in dogs, accounting for 7-21 % of all canine skin tumours. The majority of all canine mastocytomas occur in the dermis or subcutaneous tissue. The aetiology of mastocytomas is unknown, and it is probably multifactorial. The aim of this literature study is to discuss different mechanisms that may underlie the development of cutaneous mastocytomas in dogs. The study also includes the question of whether there is a genetic predisposition in certain breeds.

Mast cells are derived from hematopoietic stem cells. They leave the bone marrow as morphologically unidentifiable progenitors and migrate to various tissues, such as the skin, the lungs and the gastrointestinal tract, where they differentiate into tissue mast cells. Mast cells are important in the development of many different types of tumours. They are recruited early in the tumour development and play a key role in both angiogenesis and remodelling of the tissue, which promotes the initiation and growth of the tumours. The mast cells can also form cutaneous or visceral mastocytomas, or cause a systemic mastocytosis. Mastocytomas have a great variety regarding malignancy, localization and distribution.

Mutations in the proto-oncogene c-kit can be seen in 9-33 % of the canine mastocytomas. C-kit is a gene encoding the tyrosine kinase receptor kit, which has a ligand called stem cell factor (SCF). Interactions between SCF and kit are required for survival, differentiation, proliferation, and a normal function of mast cells. Mutations in c-kit cause an auto-activation of the tyrosine kinase receptor and thus induce a mast cell proliferation that is independent of growth factors, which may lead to the development of mastocytomas. The mastocytomas lacking mutations in c-kit have no clearly established aetiology. Some researchers have shown that there is an autocrine/paracrine mechanism in which the cells themselves produce the SCF that can bind to kit and hence cause proliferation, giving rise to cutaneous mastocytomas. Other researchers have shown that mast cells express the IL-2 receptor (IL-2R) and the ligand IL-2. When IL-2 binds to the IL-2R, signalling pathways are activated, leading to mast cell growth and survival. This autocrine mechanism is alleged to give rise to mastocytomas.

In conclusion, it is found that mutations in the proto-oncogene c-kit cause the development of mastocytomas in certain dogs. Mastocytomas lacking c-kit-mutations may have an autocrine/paracrine signalling with SCF and/or IL-2 that is important in the tumour development. Researchers have concluded that there is a genetic predisposition, as certain breeds of dogs are afflicted with mastocytomas more frequently than other breeds. However, it is unclear whether gender and sex hormones affect the tumour development. According to scientists, older dogs tend to suffer from mastocytomas more frequently than younger dogs. More research on mastocytomas is needed to ensure the mechanisms of tumours that are not caused by c-kit mutations, and to find out why certain dog breeds are affected by mastocytomas more often than other breeds.

INLEDNING

Mastocytom är den vanligaste typen av kutana tumörer som ses hos hundar, och utgör 7-21 % av hundens alla hudtumörer (Newman *et al.*, 2007). Majoriteten av mastcellstumörerna hos hundar uppstår i dermis eller i subkutan vävnad. Det förekommer även visceral mastocytom och en systemisk mastocytos, men de föregås nästan alltid av en malign kutan primärtumör. Etiologin bakom bildandet av kutana mastocytom är fortfarande inte helt klarlagd (Welle *et al.*, 2008).

Mastceller härstammar från hematopoetiska stamceller. De lämnar benmärgen i ett omoget stadium och migrerar till olika vävnader, såsom hud, respirationsorgan och gastrointestinaltrakten, där de mognar till vävnadsmastceller (Kitamura & Fujita, 1989). Studier på människor visar att mastceller är viktiga i utvecklingen av många olika tumörtyper, bland annat malignt melanom, bröstcancer och kolorektalcancer. Mastcellerna rekryteras tidigt i tumörutvecklingen och har en nyckelroll när det kommer till både angiogenes och remodelering av vävnaden, vilket främjar initiering och tillväxt av tumören. Vid senare stadier kan mastcellerna antingen inducera en immunosuppression, vilket främjar tumörtillväxt och metastasering, eller rekrytera mogna immunförsvarsceller vilket leder till tillbakabildning av tumören (Maltby *et al.*, 2009).

Mastceller kan tumöromvandlas och bilda kutana eller visceral mastocytom, eller orsaka en systemisk mastocytos. Vid en systemisk mastocytos sker en överdriven tillväxt av neoplastiska mastceller som ansamlas i benmärgen och inre organ (Quintas-Cardama *et al.*, 2011). Mastocytom har en stor variation gällande malignitetsgrad, lokalisering och spridning (Welle *et al.*, 2008). Dessa tumörer kan resultera i dödsfall på grund av paraneoplastiska störningar såsom anafylaxi eller gastroduodenal ulceration och perforering orsakat av biologiska substanser som släpps ut vid degranulering av tumörcellerna (Misdorp, 2004).

Mastocytom delas in i tre olika kategorier beroende på malignitetsgrad, där grad I är mest benign, grad II är intermediär och grad III är mest malign. Diagnostisering och gradering av mastocytom sker med hjälp av histologi. Vid gradering av tumörerna undersöks morfologiska egenskaper såsom spridning till underliggande vävnader, cellulär morfologi och mitosindex. Mastocytom av grad I är belägna i dermis och sprider sig inte till underliggande vävnader. De består av väldifferentierade celler med medelstora intracytoplasmatiske granula och saknar mitotiska celler. Mastocytom av grad III består däremot av lågt differentierade, pleomorfa celler. Cytoplasman är ogenomskinlig med små intracytoplasmatiske granula. De är invasiva och sprider sig till underliggande vävnader. Mitotiska celler, ödem och nekros är vanligt i mastocytom av grad III (Patnaik *et al.*, 1984).

Frågeställningarna som tas upp i denna uppsats är:

- Vilka uppkomstmekanismer ligger bakom utvecklingen av kutana mastocytom hos hund?
- Finns det en genetisk predisponering hos vissa hundraser? Vilka raser i så fall?

Hypotesen för denna uppsats var att en protoonkogen blir till en onkogen via en punktmutation, vilket orsakar en konstant aktivering av mastcellsproliferationen. En ytterligare hypotes var att det finns en genetisk predisponering för vissa hundraser.

MATERIAL OCH METODER

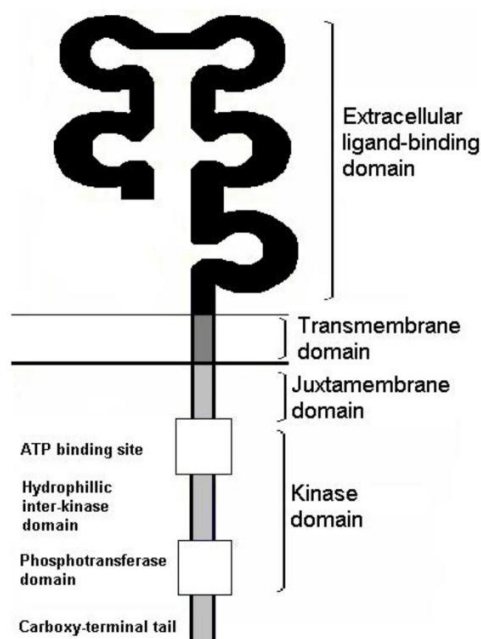
Den här studien var en litteraturstudie där databaserna CAB, Pubmed, och Web of Science användes för att söka efter relevanta vetenskapliga artiklar. Sökorden som användes var "Mast cell", Tumor, Tumour, Tumors, Tumours, Mastocytoma, Canine, Dog, Dogs, Etiology och Aetiology i olika kombinationer. Därutöver användes även referenser från andra vetenskapliga artiklar och uppsatser. Artiklar som endast tog upp behandling av mastocytom prioriterades bort.

LITTERATURÖVERSIKT

Etiologin bakom uppkomsten av kutana mastocytom hos hundar är fortfarande inte helt klarlagd, och den är förmodligen multifaktoriell (Welle *et al.*, 2008). Olika studier har genomförts för att undersöka om bland annat ålder, ras, kön, autokrina mekanismer och mutationer i genen c-kit kan kopplas till utvecklandet av kutana mastocytom.

Kit

Protoonkogenen c-kit kodar för en transmembran tyrosinkinas typ III, som har stamcells faktorn (SCF) som ligand. Tyrosinkinasreceptorn kallas för kit och består av en extracellulär domän som byggs upp av fem immunoglobulinlika domäner (kodade av exon 1-9), en transmembran domän (exon 10) och en intracellulär domän (exon 11-21). Den intracellulära domänen är i sin tur uppdelad i en negativt reglerande juxtramembrandomän (exon 11 och 12) och en cytoplasmatisk tyrosinkinasdomän (Roskoski Jr., 2005). Figur 1 visar en schematisk bild av kit (Webster *et al.*, 2006a, s.85).



Figur 1. Schematisk bild av tyrosinkinasreceptorn kit. Webster *et al.* (CC BY 2.0).

Kit uttrycks normalt på hematopoetiska celler och mastceller. Interaktioner mellan SCF och kit krävs för överlevnad, differentiering, proliferation och en normal funktion hos mastceller (Misdorp, 2004). Då liganden SCF binder in till kit induceras en dimerisering som aktiverar tyrosinkinas, vilket leder till en autofosforylering och fosforylering av exogena substrat. Dessa fosforyleringar leder sedan till en signalöverföring nedströms (Roskoski Jr., 2005). Enligt Amagai *et al.* (2013b) är det fosfatidylinositol 3-kinas-signalvägen (PI3K) som har störst betydelse när det gäller tillväxt för både kit-beroende och kit-oberoende mastocytomceller.

Flertalet studier visar att mutationer i c-kit kan orsaka kutana mastocytom hos hundar (Welle *et al.*, 2008). I en studie av Letard *et al.* (2008) undersöktes vilken typ av c-kit-mutationer som förekommer i mastocytom hos hundar. Majoriteten av mutationerna hittades i exon 11, men det fanns även ett flertal tumörer med mutationer i exon 8 och 9, samt ett fall med en mutation i exon 17. Mutationerna i exon 8 bestod av en intern tandemduplikation (ITD), vilket innebär att det finns två identiska sekvenser direkt efter varandra i ett kromosomsegment. I exon 8 var duplikationen 12 baspar lång, vilket resulterade i en insertion av aminosyrasekvensen QILT (ITD⁴¹⁷⁻⁴²¹). Det fanns även ett fall med en substitution av glutamin mot arginin i position 430 (Q⁴³⁰R). Mutationerna i exon 9 bestod antingen av en substitution av serin mot isoleucin i position 479 (S⁴⁷⁹I) eller en substitution av asparagin mot isoleucin i position 508 (N⁵⁰⁸I). Mutationen i exon 17 var en deletion sammankopplad med en insertion av en DT-sekvens (Del⁸²⁶⁻⁸²⁸ InsDT). I exon 11 hittades ovanliga in frame-mutationer (mutationer som inte orsakar någon förändring i triplettläsramen, de kan däremot leda till syntes av onormala proteiner) och deletioner i den proximala regionen (Del⁵⁵⁵⁻⁵⁵⁷ InsV, Del⁵⁵⁶⁻⁵⁵⁷, K⁵⁵⁷ InsF, K⁵⁵⁷N InsP, och K⁵⁵⁷R Del⁵⁵⁸⁻⁵⁵⁹). De flesta genetiska avvikelserna var interna tandemduplikationer lokaliserade till de distala regionerna av exon 11 (ITD⁵⁷¹⁻⁵⁹⁰).

Letard *et al.* (2008) testade de fyra vanligaste mutationstyperna och det visade sig att samtliga mutationer aktiverade tyrosinkinasreceptorn trots avsaknad av liganden SCF. Det innebär att dessa mutationer inducerar en mastcellsproliferation som är oberoende av tillväxtfaktorer.

I en tidigare studie av Ma *et al.* (1999) upptäcktes fem olika juxtamembranmutationer som aktiverade c-kit och fanns närvarande vid utvecklingen av mastcellstumörer. Riva *et al.* (2005) hittade flertalet mutationer i exon 11 i sin studie. Den vanligaste typen av mutation var en punktsubstitution av cystein mot treonin i position 1756 (C¹⁷⁵⁶T). Denna mutation hade enligt forskargruppen inte beskrivits i tidigare studier.

Flertalet studier har även genomförts med syftet att ta reda på prevalensen av c-kit-mutationer i kutana mastocytom. I en stor studie av Letard *et al.* (2008) hittades c-kit-mutationer i 26,2 % av de undersökta mastocytomen. Däremot kunde mutationer i c-kit endast detekteras i 15 % av de undersökta mastocytomen i en studie av Webster *et al.* (2006b). I en studie av Downing *et al.* (2002) kom forskargruppen fram till att prevalensen av ITD i exon 11 och 12 i mastocytom från hundar var 33 %. Webster *et al.* (2006b) kom fram till att hundar med mastocytom som innehöll ITD-mutationer i c-kit hade en signifikant kortare överlevnadstid och en ökad mortalitet jämfört med de som saknade mutationer i c-kit. Forskargruppen kom

även fram till att mutationer i c-kit är mer frekventa i mastocytom av högre malignitetsgrad (Webster *et al.*, 2006b).

Funktionen och betydelsen av mutationerna i c-kit har undersökts i flera studier. Ma *et al.* (1999) beskrev i sin forskning att mutationerna i juxtamembranregionen ökar den spontana tyrosinfosforyleringen i kit, vilket förmodligen beror på att mutationerna leder till att en inhibitor frigörs från receptorkinasen. Genom att aminosyran tryptofan byts ut mot arginin i position 556 (W⁵⁵⁶R) sker en autoaktivering av receptorn. Ma *et al.* (1999) menar att detta kan innebära att tryptofanets hydrofoba sidokedja är viktig för hämningen av kit. Andra substitutioner och deletioner av aminosyror har liknande effekter, t.ex. deletion av tryptofan i position 556 och lysin i position 557 (Del W⁵⁵⁶-K⁵⁵⁷) eller valin i position 558 (Del V⁵⁵⁸), eller en substitution av prolin mot leucin i position 575 (P⁵⁷⁵L). Riva *et al.* (2005) påstår att juxtamembranregionen interagerar direkt med N-terminalens ATP-bindande lob i tyrosinkinasdomänen. En mutation i denna region kan minska stabiliteten i domänen och ändra dess interaktion med den funktionella ytan på kinaset. Eftersom juxtamembranregionen har en hämmande roll i kontrollen av kinasreceptoraktiviteten, kommer en mutation i denna domän att resultera i en ligandoberoende aktivering av c-kit. En sådan mutationsinducerad aktivering av kit kan resultera i mastcellsproliferation och utveckling av mastocytom (Riva *et al.*, 2005).

Tidigare studier har visat att endast 9-33 % av mastocytomen hos hundar bär på relevanta c-kitmutationer (Downing *et al.*, 2002; Letard *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2012). Detta tolkade Meyer *et al.* (2012) som en indikation på att det finns ytterligare molekylära mekanismer som bidrar till utvecklingen av mastocytom.

Autokrin/parakrin produktion av SCF

I en studie genomförd av Amagai *et al.* (2013a) kom forskargruppen fram till att vissa neoplastiska mastceller har en autokrin/parakrin mekanism där cellerna själva producerar SCF. När SCF binder till kit leder detta till proliferation. På så sätt kan den autokrina/parakrina mekanismen bidra till tillväxt av neoplastiska mastceller utan att en mutation i c-kit finns närvarande. Mekanismen bakom SCF-produktionen är dock oklar.

IL-2R och IL-2

Interleukin-2-receptorn (IL-2R) består av tre distinkta kedjor (α , β och γ) som binder till liganden IL-2 och skapar en proliferativ signal i T-celler (Nelson *et al.*, 1994). Då IL-2 binder in till IL-2R-komplexet induceras en fosforylering av IL-2R β och IL-2R γ , vilket leder till aktivering av olika signalvägar såsom PI3K. Dessa signalvägar leder till celltillväxt och cellöverlevnad (Wang *et al.*, 2009). Kompletta IL-2R uttrycks framför allt på regulatoriska T-celler, men även till viss del på antigenaktiverade T-celler. Sporadiskt uttryck av olika IL-2R-subenheter har även setts på andra celltyper. Liganden IL-2 produceras främst av antigenaktiverade T-celler men har även setts hos dendritiska celler, NK-celler och NKT-celler (Malek, 2008).

Meyer *et al.* (2012) kom i sin forskning fram till att kutana mastcellstumörer uttrycker IL-2R α och att detta kan skilja dem från kutana bindvävmastceller som inte uttrycker IL-2R α . Forskargruppen såg även att mastocytom med en låg malignitetsgrad uttrycker IL-2R α i högre utsträckning än tumörer med en hög malignitetsgrad. Denna nedreglering av en proliferativ receptor reflekterar den ökade självständigheten i maligna tumörer, då de inte kräver externa stimuli för att proliferera jämfört med benigna tumörer eller icke-neoplastiska celler. Dessa resultat skapade hypotesen att IL-2R α kan ha en viktig roll i den tidiga utvecklingen av mastocytom (Meyer *et al.*, 2012).

Vidare studier av Meyer *et al.* (2013) visade att majoriteten av de kutana mastocytomen hos hundar även uttrycker IL-2R β , IL-2R γ och liganden IL-2. Uttrycket av IL-2R γ och IL-2 minskar dock signifikant i tumörer av högre malignitetsgrad. IL-2R-signalering verkar därför vara mer relevant för den tidiga utvecklingen av mastocytom och även för högt differentierade tumörer med låg malignitetsgrad, men mindre viktigt vid senare malignitetsstadier (Meyer *et al.*, 2013). Då samma mastceller uttrycker både IL-2R och IL-2, lade forskargruppen fram hypotesen att mastcellstumörceller har en autokrin tillväxtreglering, liknande den som förekommer i T-celler.

Förutom sin potentiella roll som en främjare av mastcellsproliferation, kan IL-2R α även modulera det immunmedierade svaret vid tumöruppkomst. IL-2R α som uttrycks på T-celler binder normalt till IL-2 vilket leder till proliferation av T-cellerna. Genom att mastcellstumörerna också uttrycker IL-2R kommer de att binda upp en del av det uttryckta IL-2 och på så sätt hämma T-cellsproliferationen. Detta gör att tumören kan smita undan från immunförsvaret (Poggi & Zocchi, 2006; Driesen *et al.*, 2008).

Genetisk predisponering

I en studie i Storbritannien kom forskare fram till att hundar av raserna boxer, labrador retriever, golden retriever och staffordshire bullterrier var predisponerade att utveckla mastocytom. En minskad risk sågs hos hundar av raserna engelsk cocker spaniel, west highland white terrier, tysk schäferhund och cavalier king charles spaniel (Warland & Dobson, 2013). I en annan studie ansågs boxrar, terriers och labrador retrievers vara predisponerade (Bostock, 1973). Andra raser som anses vara predisponerade är bland annat bostonterrier, bullterrier, engelsk bulldog, bullmastiff, foxterrier, tax, beagle och rhodesian ridgeback (Welle *et al.*, 2008).

I en studie som genomfördes i Michigan, USA, kom Kiupel *et al.* (2005) fram till att hundar av rasen boxer som har kutana mastocytom löper en större risk att drabbas av ytterligare mastcellstumörer. I en stor studie där 300 mastcellstumörer från hundar undersöktes, utgjordes hela 45,6 % av studiepopulationen av boxrar (Hottendorf & Nielsen, 1967). Bostock (1973) kom i sin studie fram till att boxrar har en signifikant ökad överlevnadstid jämfört med andra hundraser och menar att det beror på att boxrar ofta får mer väldifferentierade mastocytom än andra raser. I en studie av Zemke *et al.* (2002) fanns det dock ingen signifikant koppling mellan ras och tumörgrad. Författargruppen kunde inte heller finna någon association mellan förekomsten av mutationer och hundens ras.

Kön

Forskarna är oense när det kommer till frågan om hundarnas kön påverkar prevalensen för mastocytom. I en studie av Patnaik *et al.* (1984) fanns det ingen signifikant skillnad mellan prevalensen av mastocytom hos tikar och hanar. Av 83 undersökta hundar var det 43 hanar och 40 tikar som var drabbade. I en stor studie av Hottendorf och Nielsen (1967) sågs inte heller någon signifikant skillnad i prevalens mellan tikar (141 stycken drabbade) och hanar (131 stycken drabbade) av totalt 272 undersökta hundar med mastocytom. En studie av Artuković *et al.* (2014) visade dock att hanhundar löper större risk att drabbas av mastocytom än tikar. I studien undersöktes 125 hundar med mastocytom och 77 av de drabbade hundarna var hanar, medan 48 stycken var tikar.

Patnaik *et al.* (1984) menar att det inte heller finns någon koppling mellan hundarnas kön och deras överlevnad. I en europeisk studie kom dock Gerritsen *et al.* (1998) fram till att tikar tycktes ha en bättre prognos än hanhundar vid kemoterapi. Även i en studie av Kiupel *et al.* (2005) kom forskargruppen fram till att hanhundar med kutana mastocytom har en signifikant kortare överlevnadstid än tikar. Enligt Kiupel *et al.* (2005) har östrogenreceptorer och progesteronreceptorer påvisats i mastocytom från hundar. Vad det innebär är dock inte utrett.

Ålder

De flesta forskare är överens om att åldern har betydelse vid utvecklingen av mastocytom hos hundar. I en studie genomförd i USA undersöktes 100 hundar med mastocytom och studiepopulationens ålder täckte ett spann från 1 till 14 år, med en medelålder på 7,2 år. Studien visade att äldre hundar med kutana mastocytom har signifikant kortare överlevnadstid än yngre hundar (Kiupel *et al.*, 2005).

Bostock (1973) drog i sin studie slutsatsen att mastocytom tenderar att drabba hundar i medelåldern och äldre hundar. Medelåldern bland de drabbade hundarna i denna studie var cirka 9 år. I en stor studie där 300 mastocellstumörer från hundar undersöktes, var medelåldern hos hundarna 8,2 år och medianåldern var 8,6 år. Åldern på de drabbade hundarna sträckte sig dock från 7 månader upp till 18 år. Endast 11 % av hundarna var under 5 år, medan 35 % av hundarna var över 10 år (Hottendorf & Nielsen, 1967).

DISKUSSION

Den här litteraturstudien hade som syfte att besvara frågeställningen om vilka uppkomstmekanismer som ligger bakom utvecklingen av kutana mastocytom hos hund. Hypotesen var att en protoonkogen blir till en onkogen via en punktmutation, vilket orsakar en konstant aktivering av mastocellproliferationen.

Hypotesen stämde till viss del då mutationer i protoonkogenen c-kit har en stor betydelse i vissa mastocytom. Mutationer har framför allt hittats i exon 11 (Riva *et al.*, 2005; Letard *et al.*, 2008), men även i exon 8, 9 och 17 (Letard *et al.*, 2008). De flesta mutationerna utgjordes av interna tandemduplikationer (ITD), men det förekom även punktsubstitutioner, deletioner

och insertioner (Letard *et al.*, 2008). Ma *et al.* (1999) och Riva *et al.* (2005) beskriver i sina studier hur mutationer i juxtamembranregionen i c-kit leder till en instabilitet i tyrosinkinasreceptorn. Detta leder till en förlust av den hämmande funktionen i juxtamembranregionen och därmed sker en ligandoberoende autoaktivering av receptorn. En sådan mutationsinducerad aktivering av kit kan resultera i mastcellsproliferation och utveckling av mastocytom enligt de båda författarna. Det är dock endast 9-33 % av alla mastocytom som har relevanta mutationer i c-kit (Downing *et al.*, 2002; Letard *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2012) och därför stämmer inte hypotesen fullt ut. Jag tolkar det som att det förmodligen finns ytterligare mekanismer som kan ge upphov till kutana mastocytom hos hundar.

Skillnaderna i andelen mastocytom som har mutationer i c-kit är relativt stora, och har i olika studier hamnat mellan 9-33 %. Jag tror att det stora spannet kan bero på vilken malignitetsgrad de undersökta tumörerna har i studien. Enligt Webster *et al.* (2006b) är mutationer i c-kit vanligare i lågt differentierade tumörer med en högre malignitetsgrad. Enligt mina antaganden leder detta till att studier med en högre andel lågt differentierade tumörer (framför allt mastocytom av grad III) får en högre prevalens av mutationer i c-kit som resultat. Undersöks däremot fler mastocytom av en låg malignitetsgrad (framför allt mastocytom av grad I) antar jag att prevalensen av mutationer i c-kit blir lägre.

I studien av Webster *et al.* (2006b) valdes studiepopulationen ut med hjälp av ett randomiserat urval och mastcellstumörerna i studien representerade alla olika malignitetsstadier. I denna studie mättes prevalensen av mutationer i c-kit till 15 % (9 av 60 hundar hade mutationer i c-kit). I studien av Downing *et al.* (2002) var det däremot många fler tumörer av intermediär och hög malignitetsgrad (grad II och III) som undersöktes och i denna studie blev prevalensen av c-kit-mutationer hela 33 % (52 av 157 hundar hade mutationer i c-kit). Det tolkar jag som att den sanna prevalensen av c-kit-mutationer i mastocytom bör ligga närmare 15 % snarare än 33 % då studiepopulationen var randomiserad och jämnt fördelad i studien av Webster *et al.* (2006b), till skillnad från de undersökta mastocytomen i studien av Downing *et al.* (2002). Däremot var det endast 60 mastocytom som undersöktes i studien av Websters forskargrupp, medan Downings forskargrupp undersökte 157 mastocytom. För att ta reda på en mer exakt prevalens av c-kit-mutationer i mastocytom bör en randomiserad studie genomföras där ett större antal mastcellstumörer med karaktäriserad malignitetsgrad undersöks.

En alternativ mekanism bakom uppkomsten av mastocytom kan enligt Amagai *et al.* (2013a) vara en autokrin/parakrin signalering där cellerna själva producerar stamcells faktor (SCF). SCF fungerar som ligand till kit och när dessa interagerar leder det till proliferation. På så sätt kan den autokrina/parakrina mekanismen bidra till tillväxt av neoplastiska mastceller utan att en mutation i c-kit finns närvarande. Det är dock oklart hur mekanismen bakom SCF-produktionen fungerar. Studien av Amagai *et al.* (2013a) var en *in vitro*-studie som genomfördes på två olika cellinjer. Jag antar därför att resultaten kan bli annorlunda om studien genomförs *in vivo* istället, då andra enzymssystem och mekanismer i kroppen kan påverka den autokrina/parakrina signaleringen av SCF. Jag tror dock att detta kan vara en

potentiell mekanism som bidrar till utvecklingen av de mastocytom som saknar c-kit-mutationer, och därför anser jag att det krävs mer forskning inom det här området.

Meyer *et al.* (2012, 2013) tror också att en autokrin/parakrin mekanism kan vara viktig vid utvecklingen av mastocytom. Enligt Meyer *et al.* (2012, 2013) har mekanismen dock med IL-2-produktion att göra. Meyer och forskargruppen har i två olika studier sett att mastceller uttrycker alla subenheter av IL-2R och att de även kan producera liganden IL-2. När IL-2 binder till IL-2R leder det till proliferation och överlevnad hos mastcellerna (Wang *et al.*, 2009) och därmed kan detta vara en mekanism bakom utvecklandet av mastocytom. Enligt Meyer *et al.* (2012, 2013) minskar uttrycket av IL-2R och IL-2 signifikant i tumörer med en högre malignitetsgrad. Forskargruppen antar därför att IL-2R-signalering är mer relevant för den tidiga utvecklingen av mastocytom, och även för tumörer med en låg malignitetsgrad. Det här är dock ett relativt nyupptäckt område i forskarvärlden och det krävs fler studier som undersöker hur viktig denna autokrina/parakrina mekanism är när det gäller utvecklingen av mastocytom hos hund. Jag anser att det är viktigt att andra forskargrupper gör liknande studier för att kontrollera om resultaten blir snarlika. Det skulle öka trovärdigheten ytterligare för de resultat som Meyer *et al.* (2012, 2013) kommit fram till.

Jag tror att det kan finnas en möjlig autokrin/parakrin signalering där både SCF och IL-2 har en betydande roll vid utvecklingen av mastocytom. Detta antar jag eftersom uttrycket av IL-2 och IL-2R minskar vid högre malignitetsgrad, vilket skulle kunna innebära att SCF är den autokrina faktor som maligna tumörceller uttrycker för att självständigt kunna driva sin egen tillväxt. Forskning krävs dock för att se om det finns något samband mellan produktionen av IL-2 och SCF.

De flesta studier visar att kön inte har någon betydelse för hur ofta hundarna drabbas av mastcellstumörer (Hottendorf & Nielsen, 1967; Patnaik *et al.*, 1984; Welle *et al.*, 2008). En studie genomförd i Kroatien visar dock att hanhundar löper större risk att drabbas av mastocytom än tikar (Artuković *et al.*, 2014). Då flertalet studier tyder på att det inte finns någon skillnad i prevalens mellan könen, och då vissa av studierna är genomförda på ett stort antal mastocytom, antar jag att det inte finns några könsskillnader.

Studien av Artuković *et al.* (2014) genomfördes endast på hundar från Kroatien. Därför kan resultatet eventuellt vara en feltolkning om könsfördelningen hos hundarna i Kroatien inte består av lika många tikar som hanhundar. Det kanske i själva verket är så att det finns fler hanhundar i landet än det finns tikar, vilket skulle innebära att kön inte spelar någon signifikant roll i utvecklingen av mastocytom. Det finns även en möjlighet att slumpen har spelat en roll och att det var fler hanhundar som drabbades av mastocytom precis under tidsperioden som studien pågick. Kroatien utgör ett begränsat område och därför är det möjligt att inavel är ett problem i landet. Eftersom studiepopulationen endast innefattade kroatiska hundar skulle en ytterligare förklaring kunna vara att hundarna i studien var besläktade med varandra, och att det är en genetisk faktor som gör att hanhundarna i Kroatien löper en större risk att drabbas av mastocytom än tikarna. Det kan förklara varför endast

Artuković *et al.* (2014) kom fram till slutsatsen att hundarnas kön har betydelse för risken att utveckla mastocytom.

Patnaik *et al.* (1984) menar att det inte heller finns någon koppling mellan hundarnas kön och deras överlevnad. I en studie av Gerritsen *et al.* (1998) kom dock forskargruppen fram till att tikar tycktes ha en bättre prognos än hanhundar vid kemoterapi. Kiupel *et al.* (2005) kom även fram till att hanhundar med kutana mastocytom har signifikant kortare överlevnadstid än tikar. I studien av Gerritsen *et al.* (1998) medverkade endast 17 hundar och därför går det inte att dra några säkra slutsatser utifrån den studien. I studierna av Patnaik *et al.* (1984) och Kiupel *et al.* (2005) undersöktes dock mastocytom från 83 respektive 100 hundar. Jag anser att båda studierna är väl genomförda och med tillräckligt stora studiepopulationer, men de fick motsatta resultat. Kiupel *et al.* (2005) menar att östrogenreceptorer och progesteronreceptorer har hittats i mastocytom från hundar och att detta kan förklara skillnaden i överlevnad mellan drabbade hanhundar och tikar. Det här är dock ett område som kräver mer forskning då det fortfarande är oklart om hormonreceptorerna har en betydande roll i utvecklingen av mastcellstumörer hos hundar (Kiupel *et al.*, 2005).

Forskarna är överens om att det framför allt är äldre hundar som drabbas av mastocytom och medelåldern varierar mellan 7-9 år i olika studier (Hottendorf & Nielsen, 1967; Bostock, 1973; Kiupel *et al.*, 2005). Dessa resultat bygger dock på en sammanslagning av alla olika hundraser och medelåldern är satt för alla drabbade hundar, oavsett ras. Det innebär en risk för feltolkningar då små hundraser i regel blir äldre än stora raser. Till exempel är en 7-årig grand danois mycket gammal, medan en chihuahua räknas som medelålders vid samma ålder. Det här gör att det blir svårt att dra några slutsatser angående ålderns påverkan vid utveckling av mastocytom hos hundar. Enligt Patnaik *et al.* (1984) är inte heller hundens ålder signifikant kopplat till överlevnadstiden. Jag tror dock att resultaten hade kunnat bli annorlunda om hundarna grupperades utefter sina raser innan signifikansen för ålderns påverkan på överlevnadstiden undersöktes. Jag tror att åldern har betydelse för utveckling av cancer i allmänhet, och inte bara mastocytom, då äldre hundar hinner ackumulera fler mutationer i sitt DNA.

Ytterligare en frågeställning som togs upp i den här litteraturstudien var om det finns en genetisk predisponering för att utveckla mastocytom hos vissa hundraser. Forskarna verkar vara överens om att en genetisk predisponering finns eftersom vissa raser drabbas av mastocytom oftare än andra raser. I en studie av Warland och Dobson (2013) var hundar av raserna boxer, labrador retriever, golden retriever och staffordshire bullterrier predisponerade att utveckla mastocytom. En minskad risk sågs hos hundar av raserna engelsk cocker spaniel, west highland white terrier, tysk schäferhund och cavalier king charles spaniel. I en annan studie ansågs boxrar, terriers och labrador retrievers vara predisponerade (Bostock, 1973). Andra raser som anses vara predisponerade är bland annat bostonterrier, bullterrier, engelsk bulldog, bullmastiff, foxterrier, tax, beagle och rhodesian ridgeback (Welle *et al.*, 2008). I en studie där 300 mastcellstumörer från hundar undersöktes, utgjordes hela 45,6 % av studiepopulationen av boxerhundar (Hottendorf & Nielsen, 1967).

Kiupel *et al.* (2005) kom fram till att hundar av rasen boxer som har kutana mastocytom löper en större risk att drabbas av ytterligare mastcellstumörer. Bostock (1973) kom i sin studie fram till att boxrar hade en signifikant ökad överlevnadstid jämfört med andra hundraser och menar att det beror på att boxrar ofta får mer väldifferentierade mastocytom än andra raser. I en studie av Zemke *et al.* (2002) fanns det dock ingen signifikant koppling mellan ras och tumörgrad. Jag anser att studierna av Zemke *et al.* (2002) och Bostock (1973) är trovärdiga och har tillräckligt stora studiepopulationer (88 respektive 114 hundar) för att kunna dra slutsatser utifrån sina resultat. Jag tror att skillnaden i resultaten kan bero på slumpen eller på att det inte fanns tillräckligt många boxrar med i studien av Zemke *et al.* (2002) för att uppnå ett signifikant samband mellan ras och tumörgrad. I studien av Bostocks forskargrupp ingick 41 boxrar i studiepopulationen, medan det var 29 boxrar med i studien av Zemkes forskargrupp. Ytterligare en möjlig förklaring till de motsägande resultaten är att mastcellstumörerna som drabbar hundar har utvecklats under de 29 år som gick mellan de två studierna genomfördes. Då skulle det vara möjligt att det fanns ett signifikant samband mellan ras och tumörgrad år 1973, men att tumörerna med tiden utvecklades på så sätt att det inte längre fanns något signifikant samband år 2002.

Forskare har inte lyckats hitta någon mutation som förekommer mer frekvent hos de raser som oftare drabbas av mastocytom (Zemke *et al.*, 2002). Mer forskning krävs inom det här området för att kunna fastställa orsaken till varför vissa hundraser är predisponerade att utveckla mastocytom.

Sammanfattningsvis är det alltså konstaterat att mutationer i protoonkogenen c-kit orsakar utveckling av mastocytom hos vissa hundar. I mastocytom som saknar c-kit-mutationer är det dock inte helt säkerställt vilka mekanismer som ligger bakom tumörutvecklingen. Eventuellt är en autokrin/parakrin signalering med SCF och/eller IL-2 avgörande i utvecklingen av mastocytom hos hundar. Det finns även en genetisk predisponering då vissa hundraser drabbas av mastocytom oftare än andra raser. Det är oklart huruvida kön och könshormoner påverkar tumörutvecklingen. Mer forskning om mastocytom krävs för att säkerställa uppkomstmekanismerna för de tumörer som inte orsakas av c-kit-mutationer, och för att ta reda på varför vissa hundraser drabbas av mastocytom oftare än andra raser.

REFERENSLISTA

- Amagai, Y., Tanaka, A., Matsuda, A., Jung, K., Ohmori, K. & Matsuda, H. (2013a). Stem cell factor contributes to tumorigenesis of mast cells via an autocrine/paracrine mechanism. *Journal of Leukocyte Biology*, 93(2), pp 245–250.
- Amagai, Y., Tanaka, A., Matsuda, A., Oida, K., Jung, K. & Matsuda, H. (2013b). The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway Is Crucial for the Growth of Canine Mast Cell Tumors. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(6), pp 791–794.
- Artuković, B., Medven, L., Hohšteter, M., Šoštarić-Zuckermann, I. C., Kurilj, A. G., Beck, A., Huber, D., Grabarević, D., Severin, K. & Grabarević, Ž. (2014). Prevalence of cutaneous mast cell sarcoma in dogs in Croatia. *Veterinarski Arhiv*, 84(6), pp 601–614.

- Bostock, D. E. (1973). The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 14(1), pp 27–40.
- Downing, S., Chien, M. B., Kass, P. H., Moore, P. F. & London, C. A. (2002). Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c- kit in mast cell tumors of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 63(12), pp 1718–1723.
- Driesen, J., Popov, A. & Schultze, J. L. (2008). CD25 as an immune regulatory molecule expressed on myeloid dendritic cells. *Immunobiology*, 213(9-10), pp 849–858.
- Gerritsen, R. J., Teske, E., Kraus, J. S. & Rutteman, G. R. (1998). Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *Veterinary Quarterly*, 20(1), pp 28–31.
- Hottendorf, G. H. & Nielsen, S. W. (1967). Pathologic Survey of 300 Extirpated Canine Mastocytomas*. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 14(3), pp 272–281.
- Kitamura, Y. & Fujita, J. (1989). Regulation of mast cell differentiation. *BioEssays*, 10(6), pp 193–196.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Miller, R. A. & Kaneene, J. B. (2005). Impact of Tumour Depth, Tumour Location and Multiple Synchronous Masses on the Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 52(6), pp 280–286.
- Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S., Moussy, A., Kinet, J.-P., Hermine, O. & Dubreuil, P. (2008). Gain-of-Function Mutations in the Extracellular Domain of KIT Are Common in Canine Mast Cell Tumors. *Molecular Cancer Research*, 6(7), pp 1137–1145.
- London, C. A., Malpas, P. B., Wood-Follis, S. L., Boucher, J. F., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., Henry, C. J., Mitchener, K. L., Klein, M. K., Hintermeister, J. G., Bergman, P. J., Couto, G. C., Mauldin, G. N. & Michels, G. M. (2009). Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toleranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. *Clinical Cancer Research*, 15(11), pp 3856–3865.
- Malek, T. R. (2008). The Biology of Interleukin-2. *Annual Review of Immunology*, 26(1), pp 453–479.
- Maltby, S., Khazaie, K. & McNagny, K. M. (2009). Mast cells in tumor growth: Angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1796(1), pp 19–26 (Bone marrow-derived cells in tumor growth and metastasis).
- Ma, Y., Longley, B. J., Wang, X., Blount, J. L., Langley, K. & Caughey, G. H. (1999). Clustering of Activating Mutations in c-KIT's Juxtamembrane Coding Region in Canine Mast Cell Neoplasms. *Journal of Investigative Dermatology*, 112(2), pp 165–170.
- Meyer, A., Gruber, A. D. & Klopffleisch, R. (2012). CD25 Is Expressed by Canine Cutaneous Mast Cell Tumors but not by Cutaneous Connective Tissue Mast Cells. *Veterinary Pathology Online*, 49(6), pp 988–997.
- Meyer, A., Gruber, A. D. & Klopffleisch, R. (2013). All Subunits of the Interleukin-2 Receptor are Expressed by Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 149(1), pp 19–29.
- Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Veterinary Quarterly*, 26(4), pp 156–169.
- Nelson, B. H., Lord, J. D. & Greenberg, P. D. (1994). Cytoplasmic domains of the interleukin-2 receptor β and γ chains mediate the signal for T-cell proliferation. *Nature*, 369(6478), pp 333–336.

- Newman, S. J., Mrkonjich, L., Walker, K. K. & Rohrbach, B. W. (2007). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumour: Diagnosis and Prognosis. *Journal of Comparative Pathology*, 136(4), pp 231–239.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J. & MacEwen, E. G. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary Pathology Online*, 21(5), pp 469–474.
- Poggi, A. & Zocchi, M. R. (2006). Mechanisms of tumor escape: role of tumor microenvironment in inducing apoptosis of cytolytic effector cells. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 54(5), pp 323–333.
- Quintas-Cardama, A., Jain, N. & Verstovsek, S. (2011). Advances and controversies in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of systemic mastocytosis. *Cancer*, 117(24), pp 5439–5449.
- Riva, F., Brizzola, S., Stefanello, D., Crema, S. & Turin, L. (2005). A Study of Mutations in the c-kit Gene of 32 Dogs with Mastocytoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(4), pp 385–388.
- Roskoski Jr., R. (2005). Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase—The stem cell factor receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(3), pp 1307–1315.
- Wang, J., Wicker, L. S. & Santamaria, P. (2009). IL-2 and its high-affinity receptor: Genetic control of immunoregulation and autoimmunity. *Seminars in Immunology*, 21(6), pp 363–371 (After the Gwas Rush: New Insights into the Genetic Control of Autoimmunity).
- Warland, J. & Dobson, J. (2013). Breed predispositions in canine mast cell tumour: A single centre experience in the United Kingdom. *The Veterinary Journal*, 197(2), pp 496–498.
- Webster, J. D., Kiupel, M. & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2006a). Evaluation of the kinase domain of c-KIT in canine cutaneous mast cell tumors. *BMC Cancer*, 6(1), p 85.
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Kaneene, J. B., Miller, R., Resau, J. H. & Kiupel, M. (2006b). The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 8(2), pp 104–111.
- Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J. & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, 19(6), pp 321–339.
- Zemke, D., Yamini, B. & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2002). Mutations in the Juxtamembrane Domain of c-KIT Are Associated with Higher Grade Mast Cell Tumors in Dogs. *Veterinary Pathology Online*, 39(5), pp 529–535.